

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-171292
(43)Date of publication of application : 17.06.2003

(51)Int.CI. A61K 35/74
A61K 7/16
A61K 9/06
A61K 9/08
A61K 9/14
A61K 9/16
A61K 9/20
A61K 9/70
A61K 47/26
A61K 47/42
A61P 1/02

(21)Application number : 2001-365278 (71)Applicant : BIOFUERUMIN SEIYAKU KK
(22)Date of filing : 29.11.2001 (72)Inventor : KAWADA MASAHIRO
ONO YASUSHI
MATSUMURA EIKO
IMAI TATSUYA

(54) PROPHYLACTIC OR REMEDY FOR PERIODONTAL DISEASE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a prophylactic or remedy for periodontal diseases, capable of being given at a low cost, capable of being simply applied, and having greater efficacy than ever, to provide a prophylactic for halitosis, and to provide a prophylactic for dental caries.
SOLUTION: This prophylactic or remedy for the periodontal diseases contains bacteria which belong to Bifidobacterium, lactic acid bacteria or butyric acid bacteria, and further contains saccharides which are assimilated by the bacteria. The prophylactic for the halitosis and the prophylactic for the dental caries each contain the bacteria and the saccharides.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 27.10.2004
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-171292

(P2003-171292A)

(43)公開日 平成15年6月17日(2003.6.17)

(51)Int.Cl.⁷
A 61 K 35/74
7/16
9/06
9/08
9/14

識別記号

F I
A 61 K 35/74
7/16
9/06
9/08
9/14

テマコード(参考)
A 4 C 0 7 6
4 C 0 8 3
4 C 0 8 7

審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 9 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-365278(P2001-365278)

(22)出願日 平成13年11月29日(2001.11.29)

(71)出願人 391015351
ビオフェルミン製薬株式会社
兵庫県神戸市長田区三番町5丁目5番地
(72)発明者 川田 真裕
兵庫県神戸市西区井吹台東町七丁目3-4
ビオフェルミン製薬株式会社神戸工場内
(72)発明者 大野 裕史
兵庫県神戸市西区井吹台東町七丁目3-4
ビオフェルミン製薬株式会社神戸工場内
(74)代理人 100077012
弁理士 岩谷 龍

最終頁に続く

(54)【発明の名称】歯周病の予防または治療剤

(57)【要約】

【課題】本発明は安価で、簡便に実施でき、しかも従来より効果の高い歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤を提供することを目的とする。

【解決手段】ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする歯周病の予防または治療剤。

【請求項2】 糖類が、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、トレハロース、エリスリトール、マルチトール、キシリトルまたはオリゴ糖であることを特徴とする請求項1に記載の歯周病の予防または治療剤。

【請求項3】 さらに炭酸カルシウムまたは／およびアスコルビン酸を含有することを特徴とする請求項1または2に記載の歯周病の予防または治療剤。

【請求項4】 菌がシングルミクロンの菌体乾燥物であることを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載の歯周病の予防または治療剤。

【請求項5】 生菌数が、製剤全体に対して、 $10^6 \sim 10^{12}$ CFU/gであることを特徴とする請求項1～4のいずれかに記載の歯周病の予防または治療剤。

【請求項6】 ピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする歯周病原因菌のプロテアーゼ産生抑制または活性抑制剤。

【請求項7】 ピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする口臭予防剤。

【請求項8】 ピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする虫歯予防剤。

【請求項9】 ミュータンス菌の増殖を抑制する、または非水溶性グルカンの生成を抑制することを特徴とする請求項8に記載の虫歯予防剤。

【請求項10】 剂型が、錠剤、散剤、顆粒剤、ベースト剤、丸剤、チュアブル剤、含嗽剤、トローチ剤またはパッチ剤であることを特徴とする請求項1～9のいずれかに記載の予防または治療剤。

【請求項11】 かんだり、なめたりまたはうがいして服用することを特徴とする請求項1～10に記載の予防または治療剤。

【請求項12】 ピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌とこれら菌が資化しうる糖類とを歯周病原因菌に接触させることを特徴とする歯周病原因菌の駆除方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、歯周病の予防または治療剤、さらには口臭予防剤または虫歯予防剤に関する。

【0002】

【従来の技術】歯周病は、歯肉炎、歯周炎または歯槽膿漏等の歯のまわりの歯周組織に発症する炎症である。従来、歯周病の有力な治療方法としては、例えばアムホテリンB等の抗生素質を使用する方法が挙げられるが、

アムホテリンBは医師の処方が必要な薬で、一般人が簡単に入手できるものではない。また、感染症の治療に抗生素質等の化学療法剤が使用されると、これらは強力な効き目がある反面、多用すると耐性菌を出現させたり、服用によって、腸内細菌のバランスが崩れ、種々の消化器疾患を誘発する可能性がある。

【0003】歯周病は、医院に時間をかけて通院しても、治療が困難であることが知られている。そして、放置すると歯が全部抜け落ちて、食生活に深刻な支障を招くことになる。さらには、口臭発生の原因となり、他人に不快感を与えることになる。

【0004】従って、歯周病の簡便な予防、治療剤の出現が望まれ、乳酸菌のみがきが提案されている。（例えば、平成12年9月13日、今井龍弥著、マキノ出版発行の「歯周病が3日でよくなる驚異の乳酸菌歯みがき」。）

【0005】

【発明が解決しようとする課題】かかる事情に鑑みて、本発明は安価で、簡便に実施でき、しかも従来より効果の高い歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、種々検討した結果、ピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有する歯周病の予防または治療剤が、上記の問題点を一挙に解決することを知見した。さらに、本発明者らは、上記糖類が存在する場合と存在しない場合とを対比した結果、予想外にも糖類が存在する方が歯周病原因菌の駆除率が有意に良いことを知見した。

【0007】また、本発明者らは、上記の予防または治療剤に、さらに炭酸カルシウム、特に沈降炭酸カルシウムを含有させると、ピフィズス菌、乳酸菌、酪酸菌を安定化する効果があり、さらに歯周病の要因となる歯垢の除去に効果があることを確認した。また、本発明者らは、上記の予防または治療剤に、アスコルビン酸（ビタミンC）を含有させると、歯周病の予防または治療に好ましいことを知見した。またさらに、本発明に使用されるピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌として、シングル

ミクロンの菌体乾燥物を使用すると、歯周病の予防または治療の効果が上昇することを知見した。さらに、上述したような歯周病の予防または治療剤は、口臭予防剤または虫歯予防剤としても効果を発揮することも知見した。このような種々の新知見を得た上に、さらに検討を加えて、本発明を完成するに至った。

【0008】すなわち、本発明は、(1)ピフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする歯周病の予防または治療剤、(2)糖類が、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、トレハロース、エリスリトール、マルチトール、キ

シリトールまたはオリゴ糖であることを特徴とする前記(1)に記載の歯周病の予防または治療剤、(3)さらに炭酸カルシウムまたは/およびアスコルビン酸を含有することを特徴とする前記(1)または(2)に記載の歯周病の予防または治療剤、(4)菌がシングルミクロンの菌体乾燥物であることを特徴とする前記(1)～(3)のいずれかに記載の歯周病の予防または治療剤、(5)生菌数が、製剤全体に対して、 10^6 ～ 10^{12} CFU/gであることを特徴とする前記(1)～(4)のいずれかに記載の歯周病の予防または治療剤、(6)ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする歯周病原因菌のプロテアーゼ産生抑制または活性抑制剤、(7)ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする口臭予防剤、(8)ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴とする虫歯予防剤、(9)ミュータンス菌の増殖を抑制する、または非水溶性グルカンの生成を抑制することを特徴とする前記(8)に記載の虫歯予防剤、(10)剤型が、錠剤、散剤、顆粒剤、ペースト剤、丸剤、チュアブル剤、含嗽剤、トローチ剤またはパッチ剤であることを特徴とする前記(1)～(9)のいずれかに記載の予防または治療剤、(11)かんだり、なめたりまたはうがいして服用することを特徴とする前記(1)～(10)に記載の予防または治療剤、(12)ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌とこれら菌が資化しうる糖類とを歯周病原因菌に接触させることを特徴とする歯周病原因菌の駆除方法、に関する。

【0009】

【発明の実施の形態】本発明の歯周病の予防または治療剤は、ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有することを特徴としている。さらに、本発明の製剤は、口臭予防剤または虫歯予防剤としても効果を發揮する。また、本発明の歯周病原因菌のプロテアーゼ活性抑制剤は、ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する菌と、これらの菌が資化しうる糖類を含有しており、歯周病原因菌が、gingipain-R(以下RGPと略す)、gingipain-K(以下KGと略す)等のプロテアーゼ産生または活性を抑制する。以下、好ましい態様について説明する。

【0010】本発明に使用される菌は、ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌に属する有用菌であって、具体的には例えば、*Bifidobacterium bifidum*、*B. longum*、*B. breve*、*B. adolescentis*、*B. infantis*、*B. pseudolongum*、*B. thermophilum*等のビフィズス菌；例えば、*Lactobacillus acidophilus*、*L. casei*、*L. gasseri*、*L. plantarum*、*L. delbrueckii* subsp *bulgaricus*、*L. delbrueckii* subsp *lactis*等の乳酸桿菌；例えば、*Leuconostoc mesenteroides*、*Streptococcus(Enterococcus) faecalis*

s. *Streptococcus(Enterococcus) faecium*、*Streptococcus(Enterococcus) hirae*、*Lactococcus lactis*、*Streptococcus thermophilus*等の乳酸球菌；例えば、*Bacillus coagulans*等の有胞子性乳酸菌；*Bacillus toyo i*、*B. licheniformis*、*Clostridium butyricum*等の酪酸菌；その他の有用菌が挙げられる。

【0011】上記菌体は、公知の条件またはそれに準じる条件で培養することにより得ることができる。例えば、乳酸菌類の場合、グルコース、酵母エキス、および10ペプトン等を含む液体培地で前記乳酸菌類の1種または2種以上を通常約25～45°C程度で約4～24時間程度培養し、培養液から菌体を集菌し、洗浄し、湿菌体を得る。

【0012】一方、駆除対象となる歯周病原因菌としては、具体的には例えば、*Porphyromonas gingivalis*(P G菌)、*Prevotella intermedia*(P I菌)、*Actinobacillus actinomycetemcomitans*(A A菌)、カンジダ菌またはミュータンス菌等が挙げられる。

【0013】本発明で使用される上記有用菌が資化しうる糖類は、菌種により異なるため概にはいえないが、通常、例えばグルコース、乳糖、ショ糖、マルトース、トレハロース等の单または二糖類、エリスリトール、キシリトール、マンニトール、マルチトール等の糖アルコール類、例えばラクトシュークロースなどのオリゴ糖類、シクロデキストリン、デキストリン等の多糖類が挙げられる。これら糖類の使用量は、予防または治療剤100重量部に対して、通常、約5～99重量部、好ましくは約10～99重量部である。

【0014】本発明で使用される予防または治療剤は、30さらに炭酸カルシウム(好ましくは沈降炭酸カルシウム)または/およびアスコルビン酸を含有していてよい。炭酸カルシウムの使用量は、予防または治療剤100重量に対して、通常、約3～50重量部、好ましくは約10～30重量部である。さらに、アスコルビン酸の使用量は、予防または治療剤100重量に対して、通常、約1～75重量部、好ましくは約10～40重量部である。

【0015】本発明において使用される菌は、シングルミクロンの菌体乾燥物であってもよい。菌体乾燥物とは、通常は乾燥された個々の菌体または乾燥された菌体の集合物をいう。また、シングルミクロンとは、小数第401位を四捨五入して1～10μmをいう。

【0016】菌体乾燥物の好ましい製造方法について説明する。上記菌体を溶媒に分散して菌体液とする。溶媒は、当業界で用いられる公知の溶媒を用いてよいが、水が好ましい。また、所望によりエタノールを加えてよい。エタノールを加えることによって、最初にエタノールが気化し、ついで水が気化するから、段階的な乾燥が可能となる。さらに、菌体液は、懸濁液であってよい。溶媒は上記で示したものと同じでよい。また、懸濁

させる際、懸濁剤、例えばアルギン酸ナトリウム等を使用してもよい。また、上記菌体液には、さらに保護剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、もしくは静電気防止剤など当業界で一般に用いられている添加剤を通常の配合割合で添加してもよい。

【0017】上記菌体液を、菌体乾燥物を製造するため噴霧乾燥装置による乾燥操作に付する。噴霧乾燥装置は、シングルミクロンの噴霧液滴を形成できる微粒化装置を備えた噴霧乾燥装置が好ましい。非常に粒径の小さな噴霧液滴にすると、噴霧液滴の単位重量あたりの表面積が大きくなり、乾燥温風との接触が効率よく行われるため、生産性が向上する。ここでシングルミクロンの液滴とは、噴霧液滴の粒径が小数第1位を四捨五入して1~10μmであるものをいう。

【0018】噴霧乾燥装置には、微粒化装置が、例えばロータリーアトマイザー（回転円盤）、加圧ノズル、または圧縮気体の力を利用した2流体ノズルや4流体ノズルである噴霧乾燥装置が挙げられる。本発明においては、シングルミクロンの噴霧液滴を形成できるものであれば、上記形式のいずれの噴霧乾燥装置であってもよいが、4流体ノズルを有する噴霧乾燥装置を使用するのが好ましい。

【0019】4流体ノズルを有する噴霧乾燥装置では、4流体ノズルの構造としては、気体流路と液体流路とを1系統として、これを2系統ノズルエッジにおいて対称に設けたもので、ノズルエッジに流体流動面となる斜面を構成している。また、ノズルエッジの先端の衝突焦点に向かって、両サイドから圧縮気体と液体を一点に集合させる外部混合方式の装置がよい。この方式であれば、ノズル詰まりがなく長時間噴霧することが可能となる。

【0020】4流路ノズルを有する噴霧乾燥装置について図1を用いてさらに詳しく説明する。4流路ノズルのノズルエッジにおいて、液体流路3または4から湧き出るように出た菌体液が、気体流路1または2から出た高速気体流により流体流動面5で薄く引き伸ばされ、引き伸ばされた液体はノズルエッジ先端の衝突焦点6で発生する衝撃波で微粒化することにより、シングルミクロンの噴霧液滴7を形成する。

【0021】圧縮気体としては、例えば、空気、炭酸ガス、窒素ガスまたはアルゴンガス等の不活性ガス等を用いることができる。とくに、酸化されやすいもの等を噴霧乾燥させる場合は、炭酸ガス、窒素ガスまたはアルゴンガス等の不活性ガスを用いるのが好ましい。圧縮気体の圧力としては、約1~15kg重/cm²程度、好ましくは約3~8kg重/cm²程度である。ノズルにおける気体量は、ノズルエッジ1mmあたり、約1~100L/分程度、好ましくは約10~20L/分程度である。

【0022】その後、乾燥室において、その噴霧液滴に乾燥温風を接触させることで水分を蒸発させ菌体乾燥物

を得る。乾燥室の入り口温度は、約2~400°C程度、好ましくは約5~250°C程度、より好ましくは約5~150°C程度である。入り口温度が約200~400°C程度の高温であっても、水分の蒸発による気化熱により乾燥室内の温度はそれほど高くならず、また、乾燥室内の滞留時間を短くすることにより、生菌の死滅や損傷をある程度抑えることができる。出口温度は、約0~120°C程度、好ましくは約5~90°C程度、より好ましくは約5~70°C程度である。

10 【0023】4流路ノズルを有する噴霧乾燥装置では、液体流路が2流路あるので、異なった2種の菌体液または菌体液と他の溶液もしくは懸濁液をそれぞれの液体流路から、同時に噴霧することにより、これらが混合された菌体乾燥物を製造できる。例えば、異なった2種類の菌体の菌体液を同時に噴霧することにより、該2種の菌体を含有する菌体乾燥物が得られる。

【0024】上記のように菌体乾燥物の粒径を小さくすることにより、生菌率が上がり、生菌率の多い歯周病の予防または治療剤を提供できるという利点がある。すなわち、シングルミクロンの菌体乾燥物を得るためにシングルミクロンの噴霧液滴を噴霧するのが好ましい。噴霧液滴の粒径を小さくすると、噴霧液滴の単位重量あたりの表面積が大きくなるので、乾燥温風との接触が効率よく行われ、乾燥温風の熱による菌体の死滅または損傷を極力抑えることができる。その結果として、生菌率が上がり生菌数の多い菌体乾燥物が得られる。

【0025】本発明において、シングルミクロンの菌体乾燥物を含む製剤中の生菌数は、製剤全体の重量に対して、10⁶~10¹²CFU/g程度、好ましくは約30 1.0×10¹¹~2.0×10¹²CFU/g程度である。ここで、製剤中の生菌数の測定は菌体によって異なるが、例えば日本薬局方外医薬品規格に記載のされたそれぞれの菌体の定量方法により容易に測定できる。

【0026】本発明の予防または治療剤は上記成分を混合することにより容易に製造される。本発明にかかる歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤は、どのような形態をとってもよい。例えば、錠剤、散剤、顆粒剤、ペースト剤、丸剤、チュアブル剤、含嗽剤、トローチ剤もしくはバッチ剤、またはヨーグルト等が挙げられる。歯周病の予防または治療剤として、中でも、錠剤、散剤、顆粒剤、ペースト剤、チュアブル剤、含嗽剤、トローチ剤またはバッチ剤が好ましく用いられる。

【0027】本発明にかかる歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤は、上述したように錠剤、散剤、顆粒剤、ペースト剤、丸剤、チュアブル剤、含嗽剤、トローチ剤またはバッチ剤等の薬剤の形態に加工されてもよい。かかる薬剤の加工方法は、公知の製剤方法に従ってよい。例えば、錠剤を製造する場合は、公知の打錠機を用いるとよい。該打錠機としては、例えば

単発式打錠機またはロータリー型打錠機等が挙げられる。また、賦形剤（例えば、乳糖、デンブン、結晶セルロースもしくはリン酸ナトリウム等）、結合剤（例えば、デンブン、ゼラチン、カルメロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロビルメチルセルロース、ヒドロキシプロビルセルロース、ポリビニルピロリドン等）、崩壊剤（例えばデンブン、カルメロースナトリウム等）、滑沢剤（例えばタルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、マクロゴール、ショ糖脂肪酸エステル等）等、当業界で使用される公知の添加剤等を含有していてもよい。

【0028】また、例えば、散剤または顆粒剤の製造方法としては、公知の方法に従ってよく、例えば上記菌体乾燥物をそのまま使用してもよい。さらに、例えばペースト剤は、公知の方法に従って製造されてよく、例えば上記菌体乾燥物と該菌体が資化しうる糖類のほかに、唾液を考慮して疎水性軟膏基剤（ワセリンまたはプラスチベースなど）に粘着性物質（カルボキシメチルセルロースナトリウムまたはポリアクリル酸ナトリウムなど）を加えて製造される。

【0029】また、本発明にかかる歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤は、丸剤、チュアブル剤またはトローチ剤であってもよく、これら2つの薬剤の製造方法は、公知の方法に従って行われてよく、例えば錠剤を製造するのと同じ手段で作ることができる。

【0030】本発明にかかる歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤は、含嗽剤であってもよく、該薬剤の製造方法は、公知の方法に従って行われてよい。例えば、本発明にかかるビフィズス菌等の善玉菌と、善玉菌を資化しうる糖類とを溶剤、例えばアクリノールやオキシドール等に溶解することによって製造できる。

【0031】さらに、本発明にかかる歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤は、バッチ剤であってもよい。該バッチ剤は、公知の方法に従って製造されてよく、例えば上記ペースト剤を、口腔内に粘着することができる物質に貼り付ける、または混合して、口腔内の患部に貼り付けられるようにすることが好ましい。

【0032】本発明の歯周病原因菌の駆除方法は、ビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌とこれら菌が資化しうる糖類とを歯周病原因菌に接触させることを特長とする。このような要件を満たしていれば、どのような様によつて行われてもよい。かかる駆除方法の1つとして、本発明にかかる歯周病の予防または治療剤を、歯みがきに使用する方法が挙げられる。

【0033】上述の歯磨きは、以下に示すような方法で行なうことが好ましい。第一段階は、一般に市販されている通常の歯みがき粉と歯ブラシを使って、歯周部分を清

浄にする。

【0034】第二段階は、以下のように行われる。歯ブラシに、本発明にかかる歯周病の予防または治療剤をつける。このとき、歯周病の予防または治療剤は、粉末であることが好ましく、該歯周病の予防または治療剤が顆粒剤または散剤である場合は、そのまま使用してもよいし、すり鉢等ですりつぶして粉末状にして使用するものがよい。かかる場合、例えばまず錠剤を突きついたうえで、粉末にするとよい。さらに、ペースト剤やヨーグルトを使用してもよく、かかる場合は、そのまま使用するのが好ましい。

【0035】歯ブラシにつける本発明にかかる歯周病の予防または治療剤の量は、小さじ1杯程度を歯ブラシにつけることが好ましい。本発明の歯周病の予防または治療剤をつけた歯ブラシを、歯軸に対して、約45～50°程度の角度に傾け、歯茎を中心に小刻みに歯ブラシを動かすバス法で磨くとよいが、特にブラッシング方法は限定されない。また歯茎は、上の歯も下の歯も全部丁寧に磨くとより好ましい。本発明の歯周病の予防または治療剤で歯を磨き終わったら、口をすすぐと、該乳酸菌歯磨き粉を飲み込むことが好ましい。口をすすぐと、歯と歯茎の間の溝に接種された乳酸菌が洗い流されて、効果が弱まるおそれがある。このようにして、外部から本発明にかかる有用菌を供給することで、ごく短時間で口の中で、善玉菌であるビフィズス菌、乳酸菌または酪酸菌が優位になり、悪玉菌である歯周病菌、虫歯または口臭原因菌が駆逐される。

【0036】上記した本発明の好ましい一態様である歯みがきを行う回数は、特に限定されず、各人の歯周病の症状によって異なるため、一概にはいえない。好ましい例としては、具体的に例えば、治療開始当日は、朝起床時、朝食後、昼食後、夕食後、就寝時の計5回、本発明にかかる乳酸菌歯磨きを行うことが好ましい。乳酸菌歯磨きを行って、何らかの改善または効果が現れた場合は、上記例にあげた5回から、徐々に歯みがきの回数を減らしていくてもかまわない。また、7日間実施しても、効果が見られない場合は、他の乳酸菌を含む製品で、同様に7日間試してみてもよい。

【0037】本発明にかかる歯周病原因菌の駆除方法の他の好ましい態様としては、本発明にかかる歯周病の予防または治療剤を患部に貼付してもよい。この場合好適に使用されるのは、上記したペースト剤およびバッチ剤であるが、錠剤や散剤を粉末状にし、水等を加えて練り合わせたものでもよい。かかる場合、患部に集中的に薬剤が届くため、効果が高まる可能性がある。

【0038】さらに、歯みがき等ができない場合は、例えば上記したトローチ剤やチュアブル剤等を口に含み、口中でかみくだく、なめる、または溶かす等の手段によ

って、歯周病の予防または治療を行ってもよい。かかる方法によっても、歯みがきしたのと同様の効果が得られる。また、別の態様としては、例えば含嗽剤を使用して、うがいをする方法が挙げられる。かかる方法によつても、歯みがきを行つたのと同様の効果が得られるとともに、短時間で行えるという利点を有する。

【0039】本発明にかかる口臭予防剤を使用した口臭予防方法は、上記した歯みがきを行う方法、口中でかみくだく、なめる、またはうがいする方法等が挙げられる。これにより口臭原因菌を駆除でき、口臭が緩和される。

【0040】本発明にかかる虫歯予防剤を使用した虫歯予防方法は、上記した歯みがきを行う方法、口中でかみくだく、なめる、またはうがいする方法等が挙げられる。これによりミュータンス菌の増殖を抑制する、または非水溶性グルカンの生成を抑制する効果があり、虫歯予防の効果が期待される。

【0041】

【実施例】以下に実施例をあげて、本発明を詳細に説明する。しかし、本発明がこれに限定されないことはいうまでもない。

【0042】【実施例1】GAM液体培地（日本製薬製）に歯周病菌である *Porphyromonas gingivalis* (以下、PG菌と略す) (培養開始時の菌数：約 1×10^8 CFU/mL) よび3種類の乳酸菌 (*Streptococcus faecalis* 129BIO3B, *Lactobacillus acidophilus* KS13, *Bifidobacterium bifidum* G9-1; 以下、それぞれ3B, LA, BSと略す) をそれぞれ約 5×10^6 CFU/mLとなるように混合接種し、37°Cで24時間嫌気培養した。コントロールとして、PG菌のみを同様の培地に接種し、上記と同様の条件で培養した。それについて、各時間におけるPG菌数を測定した結果、乳酸菌を混合培養することにより、PG菌の増殖が抑制されたことがわかった。結果を図2に示した。

【0043】【実施例2】GAM液体培地（日本製薬製）に最終濃度1重量%となるようにグルコースを添加した。この培地にPG菌 (培養開始時の菌数：約 1×10^8 CFU/mL) と3種類の乳酸菌 (3B, LAおよびBS菌、培養開始時における各菌数：約 5×10^6 CFU/mL) を混合接種したもの、PG菌と3B菌を混合接種したもの、PG菌とLA菌を混合接種したもの、PG菌とBS菌を混合接種したものを用意した。さらにコントロールとしてPG菌のみを接種したものも用意し、これらについて37°Cで嫌気培養し、各時間におけるPG菌数を測定した。その結果、3BおよびLA菌を混合培養した系では、12時間以内で、BS菌を混合培養した系では、24時間以内で、PG菌に対して、増殖を抑制するだけでなく、殺菌的な作用を發揮することが確認された。さらに、3種乳酸菌を併用した系では、各菌単独の系と比較して、殺菌作用が高いことも確認され

た。また、結果を図3に示した。

【0044】【実施例3】GAM培地（日本製薬製）に、グルコース、乳糖およびショ糖をそれぞれ0.3重量%添加した培地3種類に、歯周病菌であるPG菌 (培養開始時の菌数：約 1×10^8 CFU/mL) と3種類の乳酸菌 (培養開始時の各菌数：3B：約 1×10^7 CFU/mL, LA：約 5×10^6 CFU/mL, BS：約 5×10^6 CFU/mL) を混合接種して37°Cで嫌気培養し、各時間におけるPG菌数を測定した。コントロールとして上記の培地に歯周病菌であるPG菌のみを接種して同様に培養した。その結果、グルコース、乳糖およびショ糖のいずれの糖を添加した場合でも、培養開始から12時間後にPG菌の数は、検出限界以下となり、歯周病菌が乳酸菌によって駆除されるなかで、糖が有用な役割を果たしていることが確認された。また、糖の違いによる顕著な効果の差は認められなかった。結果を図4に示した。

【0045】【実施例4】GAM液体培地（日本製薬製）に最終濃度1重量%となるようにグルコースを添加した。この培地にPG菌 (培養開始時の菌数：約 1×10^8 CFU/mL) と3種類の乳酸菌 (3B, LAおよびBS菌、培養開始時の各菌数：約 5×10^6 CFU/mL) を混合接種したものと、コントロールとしてPG菌のみを接種したものについて37°Cで嫌気培養した。培養開始から12時間および24時間後に培養液を回収し、その培養上清を酵素溶液として以下に記載する酵素活性測定に用いた。なお酵素活性測定法は、文献(J.Bio.chem., 123, 305-312(1998)およびOral.Microbiol.Immuno., 1, 2, 77-81(1987))を参考にした。

30 (RGP酵素活性測定法) 緩衝液 (0.1Mトリス-塩酸 (pH 8.0) / 1.5 mM L-시스ティン塩酸塩 / 1.5 mM 塩化カルシウム) 0.9 mL に 0.5 mL の基質溶液 (1 mg/mL BAPNA)、および 0.1 mL の酵素溶液を添加して、37°Cで 15 分間インキュベートした。0.5 mL の 20% 酢酸を添加して反応を停止させ、405 nm の吸光度を測定し、生成した p-ニトロアニリンの量 (基準物質 p-ニトロアニリンで検量線を作成し、生成量を算出) から酵素量を算出した。

40 (KGP酵素活性測定法) 緩衝液 (20 mM リン酸ナトリウムバッファー (pH 7.5) / 5 mM L-시스ティン) 0.8 mL に、0.1 mL の基質溶液 (100 μM Boc-Val-Leu-Lys-MCA) よび酵素溶液 (培養上清を緩衝液で 10 倍に希釈した液) 0.1 mL を添加し、40°Cで 10 分間インキュベートした。1 mL のヨードアセトアミド (pH 5.0) を添加して反応を停止させ、460 nm の吸光度を測定 (380 nm で励起) し、生成した AMC の量 (基準物質 AMC で検量線を作成し、生成量を算出) から酵素量を算出した。これらの酵素活性測定の結果、乳酸菌を培養した場合に PG 菌

11

らの酵素の分泌を著しく抑えていることがわかった。結果を図5および6に示した。

【0046】〔実施例5〕GAM液体培地（日水製薬製）に、グルコースを最終濃度1重量%となるように添加した培地と、この培地にさらにアスコルビン酸を0.5重量%添加した培地、合計2種類の培地を調製し、それぞれの培地について、コントロールとしてPG菌（培養開始時の菌数：約 1×10^8 CFU/mL）のみを接種したもの、およびPG菌と3種乳酸菌（3B、LA、BS）の培養開始時の各菌数；約 5×10^6 CFU/mLを混合接種したものを、37°Cで嫌気培養し、各時間におけるPG菌数を測定した。その結果、アスコルビン酸のみでも、PG菌に対して若干の殺菌的効果がみられたが、アスコルビン酸と3種乳酸菌を併用することによって、PG菌に対してより短時間で作用を示すことが確認できた。結果を、図7に示した。

【0047】〔実施例6〕GAM液体培地（日水製薬製）に、グルコースを最終濃度1重量%となるように添加し、これにミュータンス菌（培養開始時の菌数：約 8×10^8 CFU/mL）と3種乳酸菌（3B、LA、BS）の培養開始時の各菌数；約 5×10^6 CFU/mLを混合接種したものと、コントロールとしてミュータンス菌のみを接種したものについて、37°Cで静置培養し、各時間におけるミュータンス菌数を測定した。その結果、乳酸菌を混合することによって、ミュータンス菌の増殖を抑制する効果があることがわかった。結果を図8に示す。

【0048】〔実施例7〕糖を含まないトリプティックソイプロス培地（Difco製）に最終濃度2重量%と*

12

*なるようにショ糖を添加し、これにミュータンス菌（培養開始時の菌数：約 8×10^8 CFU/mL）と3種乳酸菌（3B、LA、BS）の培養開始時の各菌数；約 5×10^6 CFU/mLを混合接種したものと、コントロールとしてミュータンス菌のみを接種したものについて、37°Cで24時間静置培養した。培養液を遠心分離し、沈渣を洗浄後、0.5Mの水酸化ナトリウム水溶液で非水溶性グルカンを抽出した。定量法として、Anal. Chem., 28, 350-356(1956)に記載のフェノール硫酸法を採用し、グルコース換算量として表したもの非水溶性グルカン量とした。その結果、3種乳酸菌を添加した場合には、非水溶性グルカンの生成量が大幅に抑制されていることがわかった。結果を図9に示す。

【0049】〔実施例8〕被験者A、B、C、Dの計4人に歯みがき後、沈降炭酸カルシウム；15重量%、乳糖；20重量%、アスコルビン酸；1重量%、コーンスターク30重量%、および3種乳酸菌（3B、LA、BS乾燥菌体の等量混合物）；3重量%を用い、常法に従って製造した錠剤3錠を口に含み、口内で転がすか噛み碎いて服用させた。これを1日3回、2週間継続して行った。服用期間の前後で歯科ドック検査を実施し、ブラーク量、口臭およびミュータンス菌数の各項目について測定した。その結果、ブラーク量については全体的に低下する傾向にあり、口臭については、試験前に高い数値を示した被験者に対して効果が見られた。さらにミュータンス菌数についても、試験前に高い数値を示した被験者に対して効果が見られた。結果を表1に示した。

【0050】

【表1】

被験者	ブラーク量(スコア)		口臭		ミュータンス菌数	
	前	後	前	後	前	後
A	3	0	80	40	540	<500
B	2	2	15	15	23700	5100
C	3	2	30前後	20~30	<500	<500
D	2	0	80	40	<500	600

【0051】〔実施例9〕一日当たり2回の通常の歯みがき習慣を有する年齢60歳の男性が、右下奥歯の歯茎が腫れ、食事時に堅いものを噛むと圧痛を覚えたので、夕食後、通常の歯みがきの後、実施例8に記載の錠剤1錠をかみくだき、歯みがきして、水による口すすぎをせず、かみくだいた錠剤を飲み下した。3日後には歯茎の腫れがひき、圧痛が消失した。

【0052】

【発明の効果】本発明によれば、誰にでも簡単に実施でき、かつ安価である歯周病の予防または治療剤、口臭予防剤または虫歯予防剤を提供することができる。これらの製剤は有用であるから、本発明は食品産業や医薬産業に貢献できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】4流路ノズルを有する噴霧乾燥装置におけるノズルエッジ部分の内部構造を示す。

【図2】PG菌の増殖に対する乳酸菌の効果を示す。

40 【図3】PG菌の増殖に対する各種乳酸菌および3種乳酸菌の効果を示す。

【図4】乳酸菌のPG菌抑制効果に対する種々の糖の効果を示す。(a)はグルコースを添加した場合の効果、

(b)は乳糖を添加した場合の効果、(c)はショ糖を添加した場合の効果を示す。

【図5】RGP酵素活性に対する3種乳酸菌の効果を示す。

【図6】KGP酵素活性に対する3種乳酸菌の効果を示す。

50 【図7】3種乳酸菌のPG菌抑制効果に対するアスコル

ピン酸の作用を示す。

【図8】ミュータンス菌に対する3種乳酸菌の効果を示す。

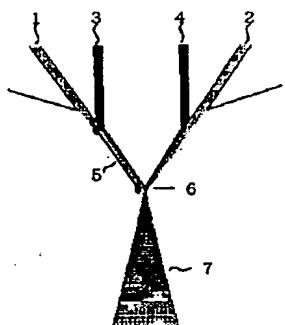
【図9】非水溶性グルカンの生成に対する3種乳酸菌の効果を示す。

【符号の説明】

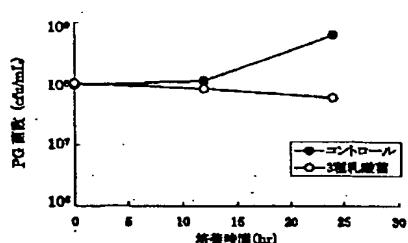
- * 1, 2 圧縮気体が供給される気体流路
- 3, 4 被乾燥体を含む液体が供給される液体流路
- 5 流体流動面
- 6 衝突焦点
- 7 噴霧液滴

*

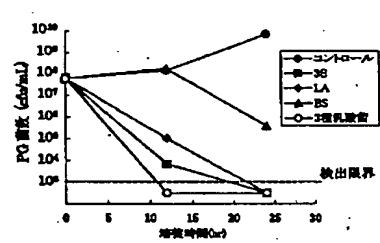
【図1】



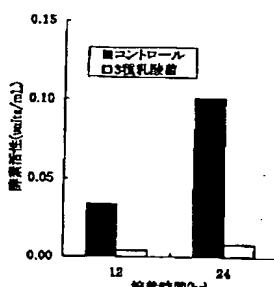
【図2】



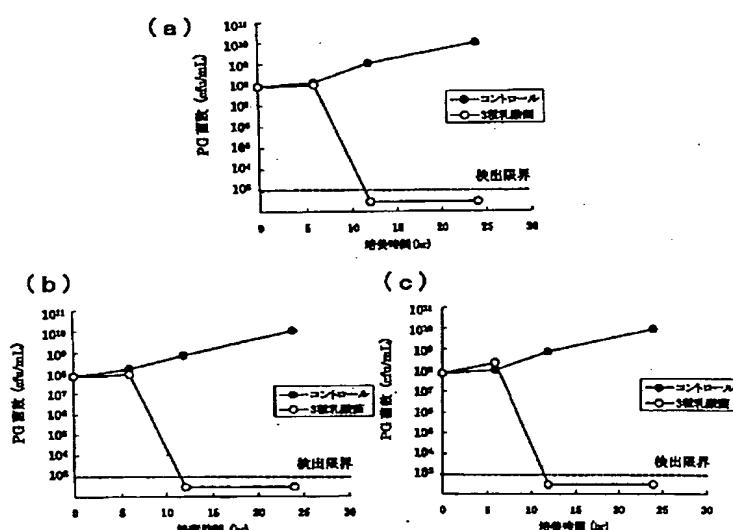
【図3】



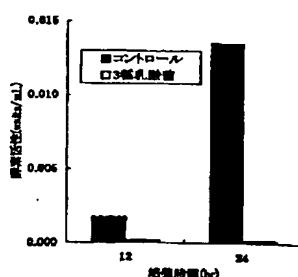
【図5】



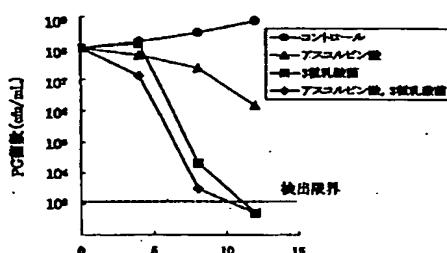
【図4】



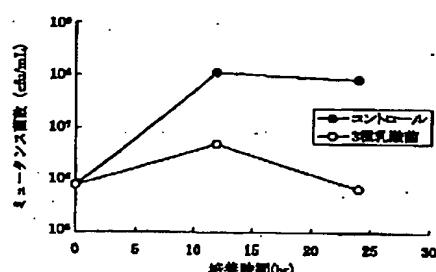
【図6】



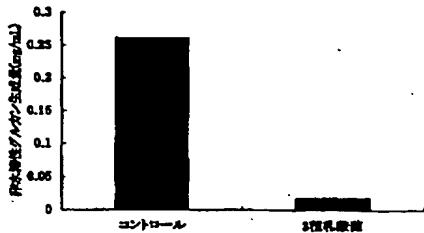
【図7】



【図8】



【図9】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	識別記号	F I	テーマコード(参考)
A 61 K 9/16		A 61 K 9/16	
9/20		9/20	
9/70	401	9/70	401
47/26		47/26	
47/42		47/42	
A 61 P 1/02		A 61 P 1/02	
(72)発明者 松村 瑛子 兵庫県芦屋市朝日ヶ丘町15-10-839		F ターム(参考)	4C076 AA12 AA16 AA30 AA31 AA36 AA72 BB22 BB23 CC09 DD67 EE30
(72)発明者 今井 龍弥 愛知県名古屋市中区平和1-5-25			4C083 AA031 AA032 AB322 AC131 AD201 AD202 AD221 AD242 AD642 CC41 DD12 DD15 DD16 DD17 DD22 DD23 EE32 EE33 EE34
			4C087 BC56 BC57 BC60 CA09 MA16 MA28 MA32 MA35 MA41 MA43 MA57 NA14 ZA67

THIS PAGE BLANK (USPTO)